Über das Vorkommen von freiem Äthanolamin (Colamin) im Liquor cerebrospinalis und im Harn des Menschen

Hilde Roth

1961

Aus der II. Medizinischen Klinik der Universität München
Direktor: Professor Dr. Dr. G. Bodechtel

ÜBER DAS VORKOMMEN VON FREIEM ÄTHANOLAMIN (COLAMIN) IM LIQUOR CEREBROSPINALIS UND IM HARN DES MENSCHEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Hilde Roth
aus
Bad Kreuznach

München 1961

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. H. Zickgraf
Correferent: Professor Dr. Dr. G. Bodechtel
Dekan: Professor Dr. Dr. H. Eyer

Tag der mündlichen Prüfung: 9. Mai 1961

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

UNI-Druck, München 13, Amalienstraße 85

Meinen Eltern

in Dankbarkeit gewidmet

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555209_0081

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. Möglichkeiten der Identifizierung einer unbekannten Substanz auf dem Papier	2
B. Methodik	4
a) Vorbereitung des Liquors und Harns	4
b) Hochspannungselektrophoretische und papierchromatographische Trennung der Aminosäuren in Liquor und Harn	5
c) Identifizierung des Äthanolamins	6
C. Ergebnisse	8
a) Das Vorkommen von Äthanolamin im Liquor	8
b) Material	11
c) Versuche zur quantitativen Bestimmung von Äthanolamin	13
D. Diskussion	14
E. Zusammenfassung	17
Literaturverzeichnis	18
Nachwort	24
Lebenslauf	25

ÜBER DAS VORKOMMEN VON FREIEM ÄTHANOLAMIN (COLAMIN) IM LIQUOR CEREBROSPINALIS UND IM HARN DES MENSCHEN

In einer Arbeit über die freien Aminosäuren im Liquor cerebrospinalis des Menschen berichten Knauff, Mialkowsky und Zickgraf (1959) über das regelmäßige Vorkommen von 25 mit Ninhydrin färbbaren Substanzen in dieser Flüssigkeit. Davon konnten folgende Stoffe identifiziert werden: Alanin, α-Amino-n-buttersäure, γ-Aminobuttersäure, Arginin, Asparaginsäure, Cystein-Cystin, Glutaminsäure, Glutamin, Glykokoll, Histidin, Leucin-Isoleucin, Lysin, Methionin, Ornithin, Phenylalanin, Prolin, Serin, Taurin, Threonin, Tryptophan, Tyrosin und Valin, also 22 Stoffe. Es fanden sich aber regelmäßig 3 weitere, damals nicht identifizierbare Substanzen, deren Flecke mit x_1, x_2 und x_5 bezeichnet wurden. Zwei andere Stoffe, wahrscheinlich niedere Peptide, die ebenfalls nicht identifiziert werden konnten und die mit x_3 und x_4 bezeichnet wurden, waren nicht in allen Fällen, sondern nur hin und wieder nachweisbar.

Wir bemühten uns um die Aufklärung der mit x_2 bezeichneten Substanz und konnten sie schließlich als Äthanolamin identifizieren. Sie war nicht nur im Liquor, sondern auch im Harn regelmäßig nachzuweisen. Auf den mit Ninhydrin nach Levy und Chung (1953) gefärbten Liquor-Chromatogrammen war der Fleck stets ziemlich schwach und klein, während er bei den später angefertigten Harn-Chromatogrammen etwas deutlicher hervortrat. Die Konzentration der fraglichen Substanz konnte also weder im Liquor noch im Urin sehr hoch sein. Da die uns zur Verfügung stehenden Liquormengen sehr gering und oft nicht leicht zu beschaffen waren, konnten wir an eine Reindarstellung zu weiterer analytischer Bestimmung der Substanz nicht denken, die Identifizierung mußte also auf dem Papier erfolgen. Auch hier hatten wir oft Schwierigkeiten, die zum qualitativen Nachweis erforderliche Mindestmenge von 5 ml Liquor zu beschaffen, vor allem bei Kindern.

Da der unbekannte Fleck bei der Elektrophorese mit saurem p_H eine sehr große Laufstrecke aufwies, welche die der basischen Aminosäuren noch weit übertraf, kamen wir zu der Überzeugung, daß es sich um eine Substanz mit stark basischen Eigenschaften und verhältnismäßig niedrigem Molekulargewicht handeln mußte. Weil sich die Substanz fast nur mit Ninhydrin und Reagenz Sä 1649 (Heffe) anfärbte, kam in erster Linie ein einfach gebautes Amin in Frage. Wir prüften deshalb zunächst folgende Amine: Dimethylamin, Tri-

methylamin, Isoamylamin, Tyramin, Adrenalin, Noradrenalin, Histamin, Tryptamin und 5-Hydroxy-tryptamin (Serotonin). Sie alle zeigten jedoch ein stark abweichendes Verhalten in Elektrophorese und Papierchromatographie und färbten sich meist auch ganz anders an. Als wir bei Versuchen über die Aminosäuren des Harns, die wir in genau der gleichen Weise durchführten wie die Versuche mit Liquor, einen Fleck fanden, der ebenso regelmäßig auftrat und genau dieselben Eigenschaften aufwies wie der Fleck x_2 im Liquor, dachten wir auch an Äthanolamin. Mehrere Autoren hatten nämlich über das Vorkommen von freiem Äthanolamin im Harn berichtet, während es im Liquor bisher noch nicht gefunden worden war.

A. Möglichkeiten der Identifizierung einer unbekannten Substanz auf dem Papier

Die Identifizierung einer unbekannten Substanz kann dadurch geschehen, daß man ihre Eigenschaften unter verschiedenen Bedingungen mit den Eigenschaften bekannter Substanzen vergleicht. Ein geeignetes Verfahren für die uns zur Verfügung stehende Menge ist z. B. der Vergleich der Wanderungsstrecke bei der Hochspannungselektrophorese mit Puffern von verschiedenem p_H, der Vergleich der R_F-Werte bei der Papierchromatographie in mehreren Lösungsmittelsystemen und die Färbung mit verschiedenen Reagenzien. Man geht dabei in folgender Weise vor:

Auf einen Filterpapierbogen wird eine kleine Menge des - wie später beschrieben - enteiweißten und entsalzten Liquors oder Harns oder einer anderen Flüssigkeit, welche die unbekannte Substanz enthält, aufgetragen. Daneben trägt man auf der gleichen Starlinie im Abstand von 2,5 - 3 cm verschiedene Reinsubstanzen zum Vergleich mit der unbekannten Substanz auf. Nach der Elektropherographie kann man die Laufstrecke der unbekannten Substanz und der Testsubstanz miteinander vergleichen, indem man die sog. R_{E1}-Werte, die Quotienten aus der Laufstrecke der Substanzen und der Länge des Papierbogens errechnet. Der R_{E1}-Wert ist also eine dem R_F-Wert der Papierchromatographie entsprechende relative Zahl, wobei hier statt der Länge des Bogens die Laufstrecke des Lösungsmittels zur Berechnung dient. Die R_{E1}-Werte werden unter verschiedenen Bedingungen bestimmt. Gleichheit der Laufstrecke der unbekannten Substanz und der bekannten Reinsubstanz gibt einen Hinweis auf die mögliche Natur des untersuchten Stoffes. Oft ist die Laufstrecke der Testsubstanz allerdings etwas größer oder geringer, da die zahlreichen in den biologischen

Flüssigkeiten stets vorhandenen Begleitsubstanzen, z. B. anorganische Salze, die Laufstrecke beeinflussen.

Da nicht auszuschließen ist, daß zwei sonst gänzlich verschiedene Substanzen zufällig den gleichen isoelektrischen Punkt und eine ähnliche Molekülstruktur und -größe haben und daher bei der Elektrophorese stets identische oder wenigstens sehr ähnliche Laufstrecken aufweisen, kann sich die Identifizierung nicht allein auf diese eine Eigenschaft stützen. Sie wird wesentlich sicherer, wenn auch die chromatographischen und färberischen Eigenschaften der zu untersuchenden Substanz und der bekannten Testsubstanz übereinstimmen. Der elektrophoretischen Untersuchung hat daher die papierchromatographische zu folgen.

Die eindimensionale Chromatographie ist unzulänglich, wenn in dem zu untersuchenden Gemisch mehrere ähnliche Substanzen vorhanden sind, da diese zusammen einen einzigen großen Fleck bilden können. Daher ist es zweckmäßig, die chromatographische Trennung in zweiter Dimension an die Elektrophorese anzuschließen. Dabei wird die punktförmig aufgetragene Untersuchungsflüssigkeit zuerst in einer Dimension elektrophoretisch aufgetrennt. Die darin befindlichen Substanzen verteilen sich dann je nach ihrer elektrophoretischen Wanderungsgeschwindigkeit auf einer Geraden, die als Startlinie für die nachfolgende Papierchromatographie dient. Zum Vergleich können in der Fortsetzung der elektrophoretisch getrennten Substanzen der Lösung zusätzlich bekannte Reinsubstanzen aufgetragen werden, so daß sie für die Chromatographie auf der gleichen Ausgangslinie liegen. Nach der Papierchromatographie werden die R_F-Werte der fraglichen Substanz und der Testsubstanzen miteinander verglichen. Die R_F-Werte werden in üblicher Weise durch Division der Laufstrecken der Substanzen durch die Laufstrecke des Lösungsmittels erhalten. Auch bei der papierchromatographischen Identifizierung wird die Sicherheit der Ergebnisse durch Chromatographie mit verschiedenen Lösungsmitteln erhöht.

Das färberische Verhalten der fraglichen Substanz bei Färbung mit verschiedenen Reagenzien bietet eine weitere Möglichkeit zu ihrer Identifizierung. Man färbt dazu am besten eindimensionale Elektropherogramme mit verschiedenen für bestimmte Stoffe spezifischen Reagenzien und vergleicht die entstehenden Farbtöne mit der Anfärbung der Testsubstanz.

Je besser die Eigenschaften der zu untersuchenden Substanz bei diesen verschiedenen und auf unterschiedlichem Prinzip beruhenden Prüfungen mit den Eigenschaften einer bekannten Testsubstanz übereinstimmen, desto eher wird man eine Identität beider Stoffe annehmen können.

B. Methodik

a) Vorbereitung des Liquors und Harns

Da wir bei der Vorbereitung des Liquors und Harns in gleicher Weise verfuhren, soll hier die Aufbereitung der Flüssigkeiten am Beispiel des Liquors beschrieben werden. Um eine Zerstörung der Aminosäuren und Amine zu vermeiden, haben wir unsere Untersuchungsflüssigkeiten stets frisch verarbeitet. War dies nicht möglich, so wurden sie bis zur Verarbeitung bei -20 Grad C in der Tiefkühltruhe aufbewahrt.

Die Liquores wurden durch Lumbalpunktion entnommen und möglichst rasch nach der Entnahme mit der doppelten Menge vorgekühlten Azetons versetzt. Dies hat den Vorteil, daß neben dem Eiweiß auch ein großer Teil der anorganischen Salze mit ausgefällt wird. Nach mindestens einhalbstündigem Stehenlassen im Kühlraum und mehrfachem Umrühren wurde das Liquor-Azeton-Gemisch 10 Minuten mit 13 000 U/Min. in der Kühlzentrifuge zentrifugiert und der Überstand vorsichtig vom Niederschlag getrennt. Dieser wurde mit Azeton nachgewaschen und erneut abzentrifugiert. Das Liquor-Azeton-Gemisch stellten wir mehrere Stunden in einen nicht evakuierten Exsikkator über Chlorcalcium, damit das Azeton verdunsten konnte. Die zurückbleibende wässrige Lösung wurde sodann nach Consden, Gordon, Martin (1947) elektrolytisch entsalzt. Wir benutzten dazu die Entsalzungsapparatur in der Modifikation von Astrup, Stage und Olson (1951), die sich zur Entsalzung kleinerer Flüssigkeitsmengen am geeignetsten erwies.

Bei der elektrolytischen Entsalzung werden manche Aminosäuren und Amine teilweise zerstört (Astrup, Stage und Olson 1951 und Stein und Moore 1951). Der Verlust ist abhängig von der Entsalzungsdauer und der Temperatur. Wir versuchten diese Fehlerquelle durch folgende Maßnahmen weitgehend zu verringern: Um die Elektrolysekammer wurde als Kühlmantel ein Glasgefäß angebracht, in welches wir zu Beginn der Entsalzung ein Eis-Kochsalz-Gemisch füllten. Auch die als Elektrolyt gebrauchte Schwefelsäure wurde vorgekühlt. Dadurch konnten wir die zu entsalzende Lösung während des ganzen Entsalzungsvorganges auf einer Temperatur von weniger als 25 Grad C halten. Außerdem bemühten wir uns die Dauer der Entsalzung möglichst abzukürzen. Nach 20 Minuten hat die Ionendichte der Lösung bereits so weit abgenommen, daß die Entsalzung abgebrochen werden kann. Völlig salzfreie Lösungen werden nicht benötigt, da ein geringer Restsalzgehalt die Ergebnisse, vor allem bei der Elektrophorese nicht beeinflußt.

Als Stromquelle diente ein in mehreren Bereichen regelbarer Gleichrichter, der

eine Gleichspannung von 50 - 300 V bei einer Stromstärke von 0,1 - 1,5 Amp. lieferte. Die Stromstärke bleibt bei Beginn der Entsalzung zunächst auf einem durch die Leistungsfähigkeit des Gleichrichters und die Menge und Ionendichte der zu entsalzenden Flüssigkeit bestimmten Niveau, bei 10 ml mit Azeton vorentsalztem Liquor etwa bei 0,4 - 0,7 Amp. Nach 10 Minuten sinkt sie allmählich, mit zunehmender Erhöhung des elektrischen Widerstandes immer schneller ab bis sie sich asymptotisch einem konstanten, sehr niedrigen Endwert nähert. Somit werden in den ersten Minuten sehr viele, in den weiteren Minuten immer weniger Ionen aus der Flüssigkeit entfernt. In unseren Fällen war der Endwert meist nach 15 - 20 Minuten erreicht.

Nach der Entsalzung wurde der Liquor im evakuierten Exsikkator über Chlorcalcium zur Trockene eingeengt und zur Elektrophorese mit einem Fünfzigstel des ursprünglichen Liquorvolumens 0,2 n Salzsäure aufgenommen.

b) Hochspannungselektrophoretische und papierchromatographische Trennung der Aminosäuren in Liquor und Harn

Für die eindimensionale Hochspannungselektrophorese verwendeten wir eine Elektrophoresekammer nach Werner und Westphal (1955) von den Ausmaßen 15 x 60 cm. Für zweidimensionale elektropherographische und papierchromatographische Trennung ließen wir uns eine 35 x 60 cm große Kammer bauen.

Bei der Elektrophorese gingen wir auf folgende Weise vor: Ein Filterpapierbogen (Schleicher und Schüll 2043 b) wurde für die Größe der Kammer zurechtgeschnitten und mit einer Pufferlösung aus Ameisensäure, Eisessig, Wasser im Verhältnis 1:3:16 p_H 1,9 nach Kickhöfen und Westphal (1953), dem von uns am meisten verwendeten Puffer getränkt und die überschüssige Flüssigkeit mit einer Walzenpresse abgepreßt. Der nunmehr ganz gleichmäßig angefeuchtete Papierbogen wurde möglichst glatt in die Kammer eingespannt. Anschließend schalteten wir für etwa 2 Minuten den Strom ein, da sich das Papier zu Beginn der Elektrophorese stets von der Kammer abzuheben pflegte. Mit einer kleinen Walze wurde es wieder gleichmäßig glattgestrichen und dann wurden mit einer Mikropipette 5 µl der 50:1 eingeengten Ausgangsflüssigkeit strichförmig aufgetragen. Die Elektrophorese wurde 90 Minuten bei einer Spannung von 70 V/cm durchgeführt. Darauf wurde das Papier der Kammer entnommen und bei 75 Grad C im Trockenschrank getrocknet. Anschließend wurde der Bogen gefärbt. Wir verwendeten dazu meistens das von Levy und Chung (1953) angegebene Ninhydrinreagenz.

Bei kombiniertem elektrophero-chromatographischem Vorgehen wurde die Lösung punktförmig aufgetragen. Nach der Elektrophorese und dem Trocknen des Bogens trugen wir die zu prüfende Testsubstanz zu den bereits in einer Dimension getrennten Liquor- oder Harn-Aminosäuren in gleicher Höhe, jedoch etwas außerhalb der am weitesten kathodenwärts gewanderten Substanz punktförmig auf. Bei der folgenden senkrecht zur elektrophoretischen Trennrichtung durchgeführten Papierchromatographie befanden sich daher alle Aminosäuren und Amine auf einer gemeinsamen Startlinie. Die Chromatographie wurde 20 Stunden aufsteigend in n-Butanol, Eisessig, Wasser 4:1:5 durchgeführt. Darauf trockneten wir den Bogen wieder im Trockenschrank bei 75 Grad C und färbten ihn nach Levy und Chung (1953). Weitere von uns für die Papierchromatographie verwendete Lösungsmittel waren: n-Butanol, Eisessig, Pyridin, Wasser 4:1:1:5 und Methyläthylketon, Pyridin, Wasser 7:1,5:1,5.

c) Identifizierung des Äthanolamins

Die Identifizierung des Äthanolamins geschah auf folgende Weise:

Zunächst wurde der enteiweißte, entsalzte und auf ein Fünfzigstel seines ursprünglichen Volumens eingeengte Liquor oder Harn elektrophoretisch getrennt. Zur Kontrolle trugen wir dabei im Abstand von 2,5 - 3 cm zusätzlich reines Äthanolamin auf.

Die Elektrophorese wurde mit folgenden von Michl (1952) angegebenen Pufferlösungen durchgeführt:

1.) Ameisensäure, Eisessig, Wasser 1:3:16 (p_H 1,9)
2.) Pyridin, Ameisensäure, Eisessig, Wasser 1:1,5:10:90 (p_H 3,6)
3.) Pyridin, Eisessig, Wasser 10:1:90 (p_H 6,0)

Nach Trocknen und Färben des Bogens verglichen wir die R_{El}-Werte der unbekannten Substanz und des reinen Äthanolamins miteinander.

Da auf eindimensionalen Papierchromatogrammen Äthanolamin zusammen mit Alanin, α-Amino-n-buttersäure, Glykokoll und Threonin einen einzigen großen Fleck bildet, trennten wir die Lösung mit der unbekannten Substanz vor der Chromatographie in erster Dimension elektrophoretisch auf. Nach Trocknen des Bogens trugen wir zusätzlich reines Äthanolamin punktförmig auf und schlossen die Papierchromatographie in den verschiedenen oben angeführten Lösungsmitteln an. Dadurch konnten wir die R_F-Werte der unbekannten

Substanz und des reinen Äthanolamins miteinander vergleichen. Die vorausgehenden Elektrophoresen wurden mit den drei oben angegebenen Pufferlösungen durchgeführt.

Zur Prüfung des färberischen Verhaltens beider Substanzen fertigten wir von der Lösung und von reinem Äthanolamin eindimensionale Elektropherogramme an, die mit folgenden Reagenzien angefärbt wurden: Ninhydrin nach Levy und Chung (1953), nach Brüggemann und Drepper (1952), nach Bode (1955), nach Moore und Stein (1954), mit Isatin nach Acher, Fromageot und Intisz (1950), mit 1, 2 naphthochinon-4-sulfonsaurem Natrium nach Folin (1922) modifiziert nach Barrollier, Heilmann und Watzke (1956) und mit dem Triketopiperidinderivat (Reagenz Sä 1649) nach Heffe (1957).

Um wenigstens semiquantitativ die Konzentration des Liquoräthanolamins bestimmen zu können, haben wir den Äthanolaminfleck aus Liquor mit anderen Aminosäuren, deren Konzentration im Liquor bekannt ist, verglichen. Dies setzt voraus, daß äquimolare Mengen von Äthanolamin mit Ninhydrin dieselbe Farbintensität ergeben wie die zum Vergleich herangezogenen Aminosäuren. Da der Äthanolaminfleck in seiner Intensität am besten den Flecken der Aminosäuren Arginin, Threonin und Valin entsprach, untersuchten wir die Ninhydrinfärbbarkeit dieser Substanzen und des Äthanolamins. Dazu wurde je eine 0, 001 m Stammlösung dieser Stoffe in n/10 HCl hergestellt und mit Aqua dest. im Verhältnis 1:2, 1:4, 1:6, 1:10 verdünnt. Je 2 ml dieser Lösungen wurden mit 1 ml einer Lösung von 2 g Ninhydrin und 40 mg $SnCl_2 . H_2O$ in 75 ml Methylglykol und 25 ml Azetatpuffer p_H 5,5 versetzt. Der Ansatz wurde 20 Minuten im kochenden Wasserbad erhitzt und dann bei der Wellenlänge 578 mμ, dem Extinktionsmaximum der entstehenden Ninhydrinfarbe, kolorimetriert (Moore und Stein 1957). 2 ml mit der gleichen Ninhydrinlösung versetzten dest. Wassers dienten zur Bestimmung des Leerwertes.

C. Ergebnisse

a) Das Vorkommen von Äthanolamin im Liquor

Bei 16 eindimensionalen Elektropherogrammen erhielten wir für reines Äthanolamin sowie für die Substanz aus Liquor und aus Harn die in Tab. 1 angegebenen R_{El}-Werte als Mittelwerte:

Puffer	Substanz aus Liquor	Substanz aus Harn	Äthanolamin
p_H 1,9	1,27	1,38	1,33
p_H 3,6	1,35	-	1,40
p_H 6,0	1,71	-	1,68

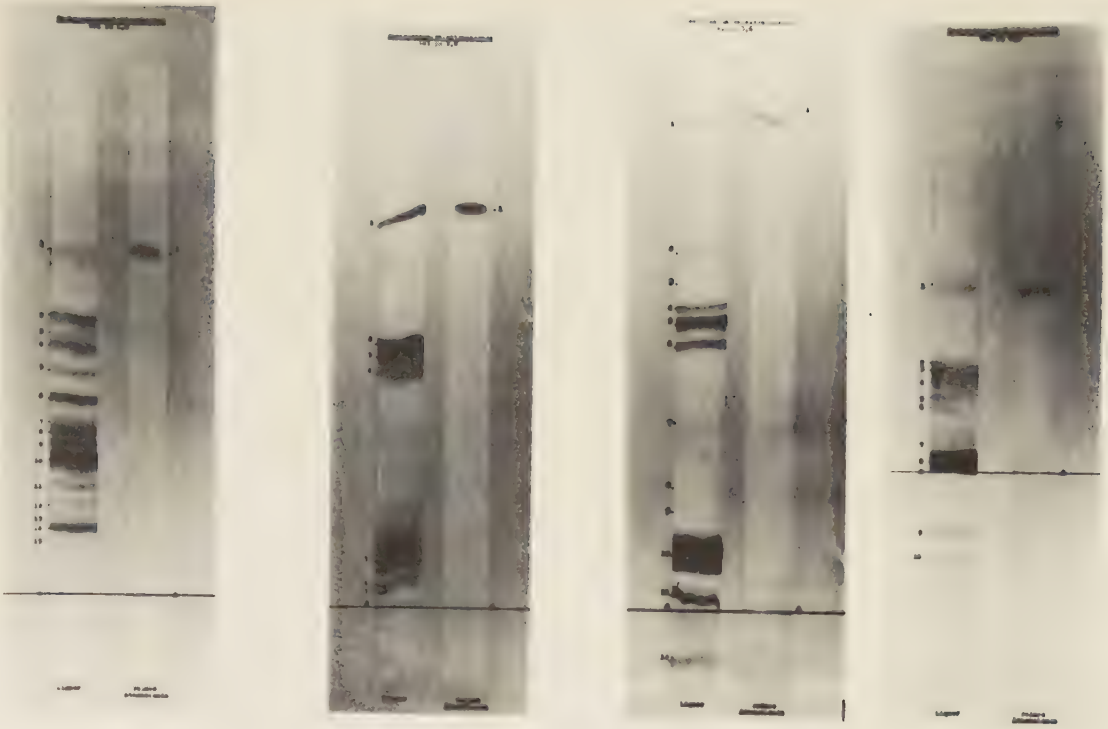
Tab. 1 : R_{El}-Werte des reinen Äthanolamins sowie der unbekannten Substanz aus Liquor und aus Harn

Bei 30 kombinierten zweidimensionalen Elektrophero-Chromatogrammen erhielten wir für reines Äthanolamin sowie für die Substanz aus Liquor und aus Harn die in Tab. 2 angegebenen R_F-Werte als Mittelwerte:

Lösungsmittel	Substanz aus Liquor	Substanz aus Harn	Äthanolamin
n-Butanol, Eisessig, Wasser 4:1:5	0,35	0,31	0,29
n-Butanol, Eisessig, Pyridin, Wasser 4:1:1:5	0,34	-	0,33
Methyläthylketon, Pyridin, Wasser 7:1,5:1,5	0,23	-	0,24

Tab. 2: R_F-Werte des reinen Äthanolamins und der unbekannten Substanz aus Liquor und aus Harn (Puffer p_H 1,9)

Mit den oben angegebenen Reagenzien erhielten wir für reines Äthanolamin sowie für die Substanz aus Liquor und Harn die in Tabelle 3 angegebenen Fär-



a) p_H 1,9 b) p_H 2,8 c) p_H 3,6 d) p_H 6,0

Abb. 1: Hochspannungselektropherogramme des Liquor cerebrospinalis bei verschiedenem p_H, rechts daneben jeweils reines Athanolamin. Färbung mit Ninhydrin nach Levy und Chung (1953) (a - c), bzw. mit Reagenz Sä 1649 nach Heffe (1957) (d)

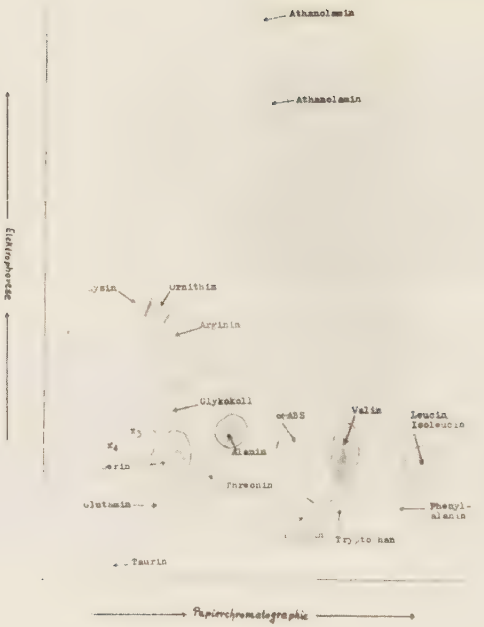


Abb. 2: Zweidimensionales, kombiniertes Elektrophero Chromatogramm von 10 µl Liquor, bei dem nach der Hochspannungselektrophorese in der Fortsetzung der elektrophoretisch getrennten Substanzen reines Äthanolamin aufgetragen wurde (oberster Äthanolaminfleck). Elektrophorese 90 Minuten mit 70 V/cm bei p_H 1,9. Papierchromatographie mit n Butanol, Eisessig, Wasser 4:1:5, 20 Stunden aufsteigend. Färbung mit Ninhydrin nach Levy und Chung (1953). Auftragsstelle des Liquors an der Kreuzungsstelle der beiden Geraden, die elektrophoretische und papierchromatographische Laufrichtung kennzeichnen.

bungen. Die unbekannte Substanz färbte sich in jedem Falle ebenso wie reines Äthanolamin.

Reagenz	Farbe
Ninhydrin nach Levy und Chung (1953)	Schwach blau
Ninhydrin nach Brüggemann u. Drepper (1952)	Rötlichviolett
Ninhydrin nach Bode (1955)	Rotblau
Ninhydrin nach Moore und Stein (1954)	Blauviolett
Triketopiperidinderivat (Reagenz Sä 1649) nach Heffe (1957)	leuchtend hellblauer Fleck, im UV-Licht kräftige dunkelblaue Fluoreszenz
Isatin nach Acher, Fromageot und Intisz (1950)	keine Färbung
1, 2 naphthochinon-4-sulfonsaures Natrium nach Folin (1922) modifiziert nach Barrollier, Heilmann und Watzke (1956)	keine Färbung

Tab. 3: Färberisches Verhalten des reinen Äthanolamins sowie der Substanz aus Liquor und Harn bei verschiedenen Reagenzien

Äthanolamin scheint ein regelmäßiger Bestandteil des menschlichen Liquors und Harns zu sein. Wir fanden es nämlich in sämtlichen untersuchten Fällen, wenn auch der Fleck bei geringer Ausgangsmenge an Liquor ziemlich schwach und nur am relativ frischen Chromatogramm oder Elektropherogramm zu erkennen war. Bei den Versuchen mit Harn war der Fleck stets etwas intensiver.

b) Material

Die Liquores stammten von Patienten der II. Medizinischen Klinik, der Nervenklinik sowie der Kinderklinik der Universität München. Neben Fällen mit inneren Erkrankungen ohne pathologischen Befund am Zentralnervensystem

wurden Patienten mit unterschiedlichen neurologischen Erkrankungen untersucht, wie genuinen und symptomatischen Epilepsien, Gefäßerkrankungen verschiedener Genese, Meningitiden verschiedener Genese, hirnatrophischen Prozessen und Gehirntumoren.

Die Harne stammten von Patienten der II. Medizinischen Klinik und von Gesunden. Unter den pathologischen Fällen befanden sich u. a. ein Fall von Melanosarkom und 2 Fälle von Morbus Wilson.

Die wichtigsten klinischen Daten unserer Fälle sind in den Tabellen 4 und 5 zusammengestellt.

Da im Organismus aus Serin durch Dekarboxylierung Äthanolamin entstehen kann, mußten wir beweisen, daß es sich bei dem von uns gefundenen Äthanolamin nicht um ein auf diese Weise in vitro entstandenes Artefakt handelt. Daher wurde eine Lösung aus Serin in Ringerlösung hergestellt und genau den gleichen Aufbereitungs- und Trennverfahren unterzogen wie Liquor und Harn. Dabei konnte keine Umwandlung von Serin in Äthanolamin festgestellt werden.

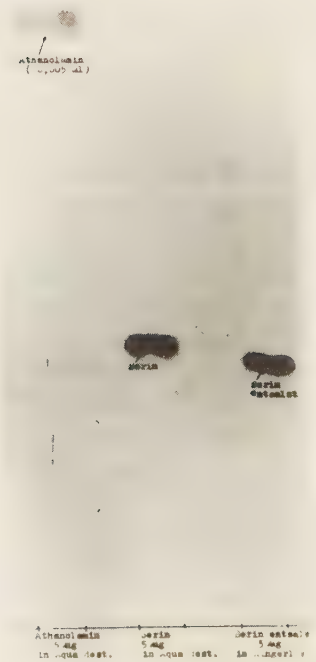


Abb. 3: Hochspannungselektropherogramm von 5 µg Äthanolamin in Aqua dest., 5 µg Serin in Aqua dest. und 5 µg Serin in Ringerlösung gelöst und elektrolytisch entsalzt.
Hochspannungselektrophorese
90 Minuten bei 70 V/cm
Puffer p_H 1,9
Färbung: Ninhydrin nach Levy und Chung (1953)

Tab. 4: Übersicht über die untersuchten Liquores

Nr.	Name	Alter u. Geschlecht	Klinische Diagnose	Liquorbefund				Pneumencephalogramm	EEG
				Zellzahl	Pandy	Kafka	Mastix		
1.	P. E.	59 ♀	Lues cerebri (serol. pos.) Hirnatrophie	1/3	opal	1,0 = 24mg%	tief	path.	path.
2.	S. H.	23 ♀	Angiospastischer cerebraler Insult	2/3	opal	1,5 = 36mg%	norm.	o. B.	path.
3.	W. M.	46 ♀	Hirnatrophie	1/3	opal	1,0 = [illegible]	norm.	path.	path.
4.	O. A.	26 ♀	Temporallappen-Anfälle n. frühkindl. Hirnschaden	12/3	opal	1,0 = 24mg%	norm.	path.	path.
5.	G. M.	22 ♀	Psychopathie	4/3	opal	0,9 = 24mg%	norm.	o. B.	o. B.
6.	B. R.	47 ♀	Epilepsie	1/3	opal	0,5 = 12mg%	norm.	-	path.
7.	K. M.	43 ♀	Vorzeitige Gefäßsklerose mit deutlicher Herabsetzung der cerebralen Zirkulation, Schlafzustände	5/3	opal	1,3 = 31mg%	norm.	o. B.	o. B.
8.	M. E.	54 ♂	Postencephalitischer Parkinsonismus u. Altersdiabetes	8/3	Trüb.	1,8 = 43,2mg%	tief, li. gelag.	-	-
9.	S. W.	22 ♂	Symptomatische Epilepsie nach Kopftrauma	12/3	Trüb.	1,5 = 36mg%	norm.	o. B.	o. B.
10.	H. A.	50 ♀	Inselzelladenom	5/3	stark opal	1,3 = 31,2mg%	norm.	o. B.	o. B.
11.	B. O.	30 ♀	Little Syndrom Tetraspastik	1/3	opal	1,0 = 24mg%	norm.	-	o. B.
12.	R. M.	62 ♀	Chromophobes Adenom d. Hypophyse	28/3	Trüb.	1,7 = 40,6mg%	norm.	path.	o. B.
13.	W. J.	33 ♂	Genuine Epilepsie u. Chron. Hepatitis	2/3	opal	1,0 = 24mg%	norm.	path.	path.
14.	K. H.	47 ♀	Diabetes insipidus	6/3	opal	0,8 = 19,2mg%	norm.	path.	path.
15.	B. M.	20 ♀	Ungeklärtes Anfallsleiden	1/3	opal	1,0 = 24mg%	norm.	o. B.	path.
16.	B. J.	39 ♂	Gefäßbedingter Hydrocephalus internus	12/3	opal	1,0 = 24mg%	norm.	path.	o. B.
17.	G. J.	34 ♂	Verdacht auf Hirntumor, Rheumatismus	2/3	opal	1,0 = 24mg%	norm.	path.	o. B.
18.	B. J.	47 ♂	Verschluß d. A. cerebri med. m. Infarzierung d. Gewebes	81/3	Trüb.	1,8 = 43,2mg%	norm.	path.	path.
19.	B. O.	45 ♂	Beginnende Gefäßerkrankung (Morbus Bürger?)	12/3	stark opal	1,4 = 33,6mg%	norm.	o. B.	o. B.
20.	S. R.	40 ♀	Psychopathie (alte beh. Lues)	3/3	opal	1,1 = 26,4mg%	norm.	-	-
21.	K. K.	3 Monate ♂	Seröse Meningitis, Anämie	39/3	-	2,3 = 55mg%	53 mg%	-	-
22.	W. I.	4 Jahre ♀	Mikrocephalus cerebr. Krampfanfälle	2/3	-	1,5 = 36mg%	67 mg%	-	-

Fortsetzung von Seite 12 a, Tab. 4

Nr.	Name	Alter und Geschlecht	Klinische Diagnose	Liquorbefund				Pneumencephalogramm	EEG
				Zellzahl	Pandy	Kafka	Mastix		
23.	W. K.	14 Jahre ♂	Meningitis tuberculosa	139/3	-	4, 2 = 100mg%	45 mg%	-	-
24.	B. K.	6 Monate ♂	Meningoencephalitis	36/3	-	2, 8 = 64mg%	56 mg%	-	-
25.	F. G.	13 Jahre ♂	Cerebrale Anfälle	14/3	-	1, 8 = 43, 2mg%	70 mg%	-	-
26.	L. A.	8 Jahre ♀	z. B. Stauungspapille, beh. Myxoedem	2/3	Pandy ∅		Nonne ∅	-	-

Tab. 5: Übersicht über die untersuchten Harne

Nr.	Name	Alter und Geschlecht	Klin. Diagnose	BKS	Serumelektrophorese	Blutchemie	Bemerkungen
1.	S. F.	17 ♂	Coxitis tub. re. m. Amyloidose vor allem d. Nieren glom. u. tub. Form	100/132	Alb. 48, 1% Glob. - $Alpha_1$ 6, 1% $Alpha_2$ 17, 4% Beta 13, 2% Gamma 15, 2%	Rest N 32 Xantho 47 Weltm. 2KB	Kongorotschwund 60 %
2.	F. A.	24 ♀	Morbus Wilson	10/20	Alb. 48, 0% Glob. - $Alpha_1$ 3, 6% $Alpha_2$ 3, 8% Beta 7, 8% Gamma 37, 8%	Bil. dir. + Bil. indir. 2, 9 Takata +++ Thymol ++ Cadmium +	
3.	A. H.	15 ♀	Kryptogene, perakut verlaufende tödliche Sepsis m. Staph. aur. häm. in Nebenn. Uterus u. Tonsillen. Hautersch. wie Purpura fulm. Henoch.	Exitus nach 2 Tagen			Urin: Eiweiß Ausgelaugte Erys, hyal. und gran. Zylinder Rundzellen
4.	G. E.	20 ♂	Malignes Melanom mit generalisierter Aussaat	35/60	Alb. 48, 0% Glob. - $Alpha_1$ 9, 0% $Alpha_2$ 14, 7% Beta 14, 0% Gamma 14, 3%	Rest N 27	Urin: Reichl. Melanin

Fortsetzung von Seite 12b, Tab. 5:

Nr.	Name	Alter und Geschlecht	Klin. Diagnose	BKS	Serumelektrophorese	Blutchemie	Bemerkungen
5.	N. A.	28 ♀	Kombiniertes Mitralvitium		Alb. 47,2% Glob. - Alpha$_1$ 3,4% Alpha$_2$ 5,3% Beta 10,5% Gamma 33,6%		
6.	L. J.	61 ♂	Praecoma hepaticum bei leberparenchymschädig. m. homologem Serumikterus chron. Emphysembronchitis chron. Cor pulmonale	39/60	Alb. 43,9% Glob. - Alpha$_1$ 8,0% Alpha$_2$ 10,0% Beta 12,0% Gamma 24,1%	Refr. 5,71 Takata +/Ø Thymol ++ Cadmium + Weltm. 3KB Indikan Ø	Millon +
7.	N. J.	43 ♂	Praecirrh. d. Leber n. Malaria tert. u. Hepat. epid. Kapselriß d. Milz. Vorhofflimmern m. totaler Arrhythmie ohne Dekompensation	11/23	Alb. 36,0% Glob. - Alpha$_1$ 6,7% Alpha$_2$ 9,9% Beta 17,3% Gamma 31,0%	Refr. 5,32 Bil. dir. ++ Bil. indir. 5,56 Thymol +++ Cadmium + Weltm. 71/4KB	
8.	M. M.	29 ♀	Eosinophiles Hypophysen-(adenom) Carcinom m. Infiltration d. Schädelbas.	11/29	Alb. 49,0% Glob. - Alpha$_1$ 3,3% Alpha$_2$ 5,5% Beta 15,0% Gamma 27,2%		
9.	L. A.	67 ♀	Chronische myeloische Leukämie akute Leberatrophie	6/11	Alb. 48,5% Glob. - Alpha$_1$ 6,5% Alpha$_2$ 6,1% Beta 4,8% Gamma 34,1%	Bil. dir. ++ Bil. indir. 6,75 Thymol +++ Weltm. 8KB	Millon ++ Leucin + Lipoide +
10.	P. G.	43 ♂	Morbus Wilson		Alb. 54,4% Glob. - Alpha$_1$ 4,4% Alpha$_2$ 6,2% Beta 10,6% Gamma 24,4%		
11.	V. I.	♀	Gesunde Versuchsperson				
12.	V. II.	♂	Gesunde Versuchsperson				
13.	V. III.	♀	Gesunde Versuchsperson				
14.	V. IV.	♂	Gesunde Versuchsperson				
15.	V. V.	♂	Gesunde Versuchsperson				

c) Versuche zur quantitativen Bestimmung von Äthanolamin

Die quantitative Bestimmung von Äthanolamin erwies sich als außerordentlich schwierig, da uns nur geringe Mengen an Ausgangsflüssigkeit zur Verfügung standen und die Größe und Intensität des Äthanolaminflecks von Versuch zu Versuch ziemlich schwankte. Um wenigstens semiquantitative Angaben machen zu können, verglichen wir Größe und Farbintensität des Äthanolaminflecks mit Flecken von Aminosäuren, deren Liquorkonzentration hinlänglich bekannt ist. Der Äthanolaminfleck glich in Größe und Intensität etwa dem der Aminosäuren Arginin, Threonin und Valin oder des Taurins. In der Literatur werden für diese Stoffe folgende Konzentrationen angegeben: Arginin 0,07 - 0,45, Threonin 0,12 - 0,32, Valin 0,08 - 0,22 µMol/ml (errechnet nach Logothetis 1955, Solomon, Hier und Bergeim 1947). Für Taurin haben wir keine Vergleichswerte. Die Konzentration des Äthanolamins im Liquor dürfte also der der erwähnten Aminosäuren entsprechen und zwischen 0,5 und 2,5 µg/ml (entsprechend 0,08 - 0,4 µMol/ml) liegen.

Nach Dent (1948) muß man mit einem gewissen Verlust der Substanz durch Verdampfen beim Trocknen der Chromatogramme rechnen, so daß die oben angegebenen Werte möglicherweise etwas zu niedrig liegen. Dieser Vergleich setzt voraus, daß äquimolare Mengen von reinem Äthanolamin mit Ninhydrin dieselbe Farbintensität ergeben wie die betreffenden Aminosäuren. Deshalb kolorimetrierten wir reine Lösungen von Äthanolamin, Arginin, Threonin und Valin in verschiedenem Dosisbereich. Die bei der Wellenlänge 578 mµ, dem Extinktionsmaximum sämtlicher 4 Ansätze gemessenen Extinktionswerte stimmen weitgehend überein. Die Flecken dieser Substanzen sind daher vergleichbar. Auch Moore und Stein (1954) geben dies an.

Weiterhin trugen wir in Elektropherogrammen neben dem Liquor unterschiedliche Mengen von reinem Äthanolamin auf. Der Fleck von 2 - 3 µg reinem Äthanolamin entsprach in Farbintensität und Größe etwa dem Äthanolaminfleck aus 3,5 ml Liquor. Demnach würde die Konzentration des Äthanolamins im Liquor ungefähr 0,5 - 1 µg/ml betragen. Bei dieser Berechnung können natürlich eventuelle kleine Verluste, die durch die Aufarbeitung des Liquors entstehen, nicht miterfaßt werden. Demgegenüber hat sie den Vorteil, daß die mögliche Fehlerquelle durch Verlust von Äthanolamin während des Trocknens der Chromatogramme ausgeschaltet ist, weil die Reinsubstanz diesem Prozeß ebenso ausgesetzt ist wie die Substanz aus Liquor. Der so erhaltene Wert steht in recht guter Übereinstimmung mit dem, welchen wir aus dem Vergleich des Äthanolaminflecks mit denen der Aminosäuren aus Liquor gewonnen hatten.

Diese Angaben können natürlich nur einen ungefähren Anhaltspunkt für die Äthanolaminkonzentration im Liquor geben. Trotz stets gleichen Vorgehens

bei der Aufarbeitung des Liquors und Harns erhielten wir bei beiden von Chromatogramm zu Chromatogramm in Größe und Farbintensität unterschiedliche Äthanolaminflecke. Da wir auch bei der Färbung der Chromatogramme stets einheitlich vorgingen, ist anzunehmen, daß die Unterschiede durch physiologische Schwankungen des Äthanolamingehaltes hervorgerufen werden. Äthanolamin verhält sich hier ebenso wie die freien Aminosäuren.

D. Diskussion

In der Literatur finden sich bisher nur wenige Angaben über das Vorkommen von freiem Äthanolamin in Körperflüssigkeiten. Im Harn wies es Walshe(1953) papierchromatographisch bei schweren Lebererkrankungen nach. Dent, Fowler und Walshe (1951) isolierten es bei einem Fall von primärem Hepatom aus dem Harn. Colovick und Cori (1939) fanden Phosphoäthanolamin in der Darmschleimhaut. Outhouse (1936, 1937) fand es in malignem Gewebe und McCance, Dent und Morrison (1955) berichten über seine Ausscheidung bei der Hypophosphatasie.

Müller (1940), Ansell und Dawson (1951/52), Tallan, Stein und Moore (1954), Knauff und Böck (1960) fanden Äthanolamin und Phosphoäthanolamin im Gehirnextrakt verschiedener Tierarten. Über das Vorkommen von freiem Äthanolamin im Liquor wurde bisher nirgends berichtet. Die Ursache dafür, daß es den bisherigen Untersuchern entgangen ist, dürfte darin liegen, daß bei der in der Klinik meist verwendeten ein- oder zweidimensionalen Papierchromatographie der relativ schwache Äthanolaminfleck von den stärkeren Flecken verschiedener Aminosäuren mit ähnlichem R_F-Wert wie Alanin, α-Amino-n-buttersäure, Glykokoll und Threonin überdeckt wird. Die Vorschaltung der Hochspannungselektrophorese gestattete dagegen, Äthanolamin infolge seiner stark basischen Eigenschaft und seines relativ niedrigen Molekulargewichtes gut von den anderen ninhydrinpositiven Substanzen abzutrennen.

Wir fanden Äthanolamin außer im Liquor in sämtlichen daraufhin untersuchten Urinen. Dent und Walshe (1953) und Walshe (1953) konnten es dagegen nur in einigen Fällen, meist von schweren Lebererkrankungen nachweisen. Dies zeigt die Überlegenheit der Hochspannungselektrophorese gegenüber der zweidimensionalen Papierchromatographie. Wir konnten mit unserem kombinierten elektrophero-chromatographischen Verfahren noch 0,5 µg reines Äthanolamin sicher nachweisen, während Dent (1948) als untere Grenze für die Papierchromatographie 5 µg angibt.

Äthanolamin scheint einen normalen Bestandteil des menschlichen Harns darzustellen. Bei bestimmten Lebererkrankungen mag es vermehrt im Urin ausgeschieden werden (Dent und Walshe 1953, Walshe 1953). Seine Konzentration im Harn des Gesunden ist wesentlich höher als im Liquor und schwankt auch in weiteren Grenzen.

Knauff, Selmair und Reitlinger (1960) fanden Äthanolamin manchmal auch im Blutplasma von Gesunden und Leberkranken, das sie den gleichen Aufbereitungs- und Trennverfahren unterzogen, die wir für die Liquores und Urine verwendeten. Jedoch konnte es im Blut nur in geringen Spuren nachgewiesen werden. Wir fragten uns daher, warum Äthanolamin regelmäßig im Liquor vorkommt, aber nicht in vergleichbarer Konzentration auch im Blut.

Das Gehirn besteht zu etwa 30 % seiner Trockensubstanz aus Phosphatiden (Tyrell und Richter 1951, Williams, Galbraith, Kaucher, Moyer, Richards und Macy 1945). Diese enthalten 70 % Kephaline (Tyrell und Richter 1951 und Artom 1945), meist als Serinkephaline und Colaminkephaline. Äthanolamin (Colamin) ist neben Fettsäuren, Phosphorsäure und Glyzerin als N-haltiger Baustein der Colaminphosphatide seit langem bekannt (Baumann 1913, Schuwirth 1941).

Demgegenüber ist der Phosphatidanteil der übrigen Organe mit 5 - 15 % des Trockengewichtes bedeutend geringer (Williams, Galbraith, Kaucher, Moyer, Richards und Macy 1945, Artom 1945, Williams, Kaucher, Richards, Moyer und Sharpless 1945). Dazu bilden bei den Körperphosphatiden die Lecithine, die an Stelle von Äthanolamin Cholin enthalten, einen wesentlich höheren Anteil als bei den Gehirnphosphatiden (Williams, Galbraith, Kaucher, Moyer, Richards und Macy 1945, Artom 1945, Williams, Kaucher, Richards, Moyer und Sharpless 1945, Levine und Chargaff 1952, Swanson und Artom 1950). Wie oben erwähnt, bestehen zwischen Äthanolamin und den beiden anderen stickstoffhaltigen Bausteinen der Gehirnphosphatide, dem Serin und Cholin enge Stoffwechselbeziehungen. Aus Serin kann durch Dekarboxylierung Äthanolamin entstehen. Durch vollständige Methylierung entsteht aus diesem Cholin. Beide Substanzen kommen im Gehirn ebenfalls in großer Menge vor. Die Phosphatide werden in der Zelle aus ihren Grundbausteinen synthetisiert (Chaikoff 1942, Changus, Chaikoff und Ruben 1938, Fishler, Taurog, Perlmann und Chaikoff 1941, Popják und Muir 1949). Auch das Gehirngewebe ist dazu in der Lage (Popják und Muir 1949, Fries, Changus und Chaikoff 1940, Rossiter, Mc Leod und Strickland 1957, Fries, Schachner und Chaikoff 1942). Andererseits bewiesen Fries, Schachner und Chaikoff (1942), daß im Gehirn auch ein Abbau

dieser Lipoide erfolgt. Knauff und Böck (1960/61) beobachteten bei im Insulinkoma getöteten Ratten einen schnellen und erheblichen Abbau von Phosphatiden, der mit einer Freisetzung von Serin, Äthanolamin, Phosphoäthanolamin und Cholin einhergeht. Auch normalerweise sind große Mengen freies Äthanolamin im Gehirn vorhanden. Walker (1952) gewann Äthanolamin und Äthanolaminphosphat aus Alkoholextrakten des Gehirns, konnte es aber in Extrakten aus Serum nicht finden. Müller (1940) konnte aus wässrigen Hirnextrakten erhebliche Mengen von freiem Äthanolamin isolieren. Knauff und Böck (1960/61) geben bei Normalratten für Äthanolamin eine Konzentration von 191,47 $\pm$ 7,92 µg/g Gehirn und für Phosphoäthanolamin 182,29 $\pm$ 16,29 µg/g Gehirn an. Im Gehirnstoffwechsel wird also immer Äthanolamin freigesetzt oder benötigt. Daß es dabei auch in die Extracellulärflüssigkeit des Gehirns und damit in den Liquor gelangt, ist demnach nicht verwunderlich. Es muß dort sogar in höherer Konzentration als im Blut zu finden sein, da dieses durch die Blut-Hirn- bzw. Blut-Liquor-Schranke vom Gehirn getrennt ist, mit den äthanolaminärmeren Organen des übrigen Körpers aber in freiem Austausch steht.

Die ziemlich hohe Konzentration des Äthanolamins im Harn trotz der niedrigen Konzentration im Blut ließe sich einmal durch die Annahme erklären, daß die Substanz in der Niere selbst gebildet wird, vielleicht aus Serin oder Glycin oder aus höhermolekularen, äthanolaminhaltigen Blutbestandteilen. Ferner könnte man aber auch annehmen, daß für Äthanolamin eine sehr hohe Clearance und damit praktisch keine Nierenschwelle besteht. Freies Äthanolamin würde dann laufend aus dem Blut entfernt und könnte sich erst im Harn anreichern.

Eine Beziehung zwischen Äthanolamingehalt im Liquor und Urin und dem klinischen Befund konnten wir bei den untersuchten Fällen nicht feststellen. Somit dürfte der Bestimmung des freien Äthanolamins wie auch der freien Aminosäuren keine größere differentialdiagnostische Bedeutung zukommen. Sowohl beim Äthanolamin als auch bei den Aminosäuren ist die Schwankungsbreite erheblich. Für routinemäßige Untersuchungen müßte das von uns angewandte, ziemlich zeitraubende und aufwendige Verfahren modifiziert werden.

Sicher wäre es interessant, mit genauen quantitativen Methoden zu untersuchen, ob schwere Meningitiden, bei welchen es durch Störung der Blut-Liquor-Schranke zu einer Angleichung des Liquor-Aminosäuren-Spektrums an das des Blutes kommt (Schönenberg 1954, 55, 56), auch mit einem Absinken der Liquoraminosäurenkonzentration einhergehen und ob bei Erkrankungen oder Zuständen, bei denen ein rapider Abbau von Gehirnphosphatiden eintritt, die

Äthanolaminkonzentration im Liquor ansteigt. Wir haben durch eigene Untersuchungen zu klären versucht, ob sich bei Fällen von Meningitis das erwartete Absinken der Äthanolaminkonzentration im Liquor nachweisen läßt. Aus technischen Gründen war dies sehr schwierig. Bei unseren Meningitiskranken handelte es sich durchweg um Säuglinge und Kleinkinder. Daher standen uns nie mehr als 3 - 4 ml Liquor für Untersuchungszwecke zur Verfügung. Diese Ausgangsmenge erlaubte jedoch keine exakte quantitative Bestimmung. Die wenigen untersuchten Fälle verbieten eine sichere Aussage.

E. Zusammenfassung

1. Freies Äthanolamin konnte im Liquor cerebrospinalis und im Harn des Menschen identifiziert werden. Seine Konzentration im Liquor dürfte etwa 0,5 - 1,5 µg/ml betragen. Im Harn ist sie wesentlich höher. Zwischen einzelnen Liquores bestehen starke individuelle Unterschiede. Zwischen verschiedenen Harnen ist die Schwankung noch größer.
2. Bei Liquor von normalen Versuchspersonen und von Patienten mit verschiedenen Erkrankungen des Zentralnervensystems ergaben sich keine Beziehungen zwischen Äthanolamingehalt des Liquors und sonstigem klinischem Befund.
3. In allen untersuchten Harnen konnte Äthanolamin regelmäßig gefunden werden. Auch hier ergaben sich keine Korrelationen zwischen klinischem Befund der Versuchspersonen und Äthanolamingehalt im Harn.
4. Die Herkunft des Äthanolamins im Liquor wird diskutiert.

Literaturverzeichnis

1. Acher R., C. Fromageot et M. Intisz,
Séparation chromatographique d'acides aminés et de peptides.
Biochim. biophys. Acta 5, 81, 1950

2. Ansell G. B. and R. M. C. Dawson,
Ethanolamin-o-phosphoric acid in rat brain.
Biochem. J. 50, 241, 1951/52

3. Artom C.,
Dates on the distribution of individual phospholipids in rat tissues and in human plasma.
J. Biol. Chem. 157, 595, 1945

4. Astrup T., A. Stage and E. Olson,
A desalting apparatus for amino acids.
Acta chem. scand. (Kopenh.) 5, 1343, 1951

5. Barrollier J., J. Heilmann u. E. Watzke,
Polychrome Sichtbarmachung von Aminosäuren auf Papierchromatogrammen und -elektropherogrammen.
Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 304, 24, 1956

6. Baumann A.,
Über den stickstoffhaltigen Bestandteil des Kephalins.
Biochem. Zschr. 54, 30, 1913

7. Bode F.,
Eine Vereinfachung und Verbesserung der Methode zur quantitativen Bestimmung von Aminosäuren und Peptiden mittels des Ninhydrin-Kupfer-Komplexes. Biochem. Zschr. 326, 433, 1955

8. Brüggemann J. u. K. Drepper,
Eine einfache Methode zur qualitativen Bestimmung von Aminosäuren auf Papierchromatogrammen.
Naturwissenschaften 39, 301, 1952

9. Chaikoff I. L.,
The application of labelling agents to the study of phospholipid metabolism.
Phys. Rev. 22, 291, 1942

10. Changus G. W., I. L. Chaikoff u. S. Ruben,
Radioactive phosphorus as an indicator of phospholipid metabolism. The phospholipid metabolism of the brain.
J. Biol. Chem. 126, 493, 1938

11. Colovick S. P. and C. F. Cori,
Aminoethyl phosphoric ester in the small intestine of rabbits and pigs.
Pro. Soc. exp. Biol. Med. 40, 586, 1939

12. Consden R., A. H. Gordon and A. J. Martin,
The identification of lower peptides in complex mixtures.
Biochem. J. 41, 590, 1947

13. Dent C. E.,
A study of the behaviour of some 60 amino-acids and other ninhydrin reacting substances on phenol-"collidine" filter paperchromatograms, with notes as to the occurence of some of them in biological fluids.
Biochem. J. 43, 169, 1948

14. Dent C. E., D. I. Fowler and J. W. Walshe,
Ethanolaminuria, an obscure metabolic defect associated with a case of primary hepatoma. Biochem. J. 48, P 13, 1951

15. Dent C. E. and J. W. Walshe,
Ethanolaminuria, a new and obscure metabolic defect.
Metabolism, 2, 474, 1953

16. Fishler M. C., A. Taurog, I. Perlmann and I. C. Chaikoff,
The synthesis and breakdown of liver phospholipid in vitro with radioactive phosphorus as indicator.
J. Biol. Chem. 141, 809, 1941

17. Folin O.,
A new colorimetric method for the determination of the amino acid nitrogen in blood. J. Biol. Chem. 51, 377, 1922

18. Fries B. A., G. W. Changus and I. L. Chaikoff,
Radioactive phosphorus as an indicator of phospholipid metabolism. IX. The influence of age on the phospholipid metabolism of various parts of the central nervous system of the rat. The comparative phospholipid activity of various parts of the central nervous system of the rat.
J. Biol. Chem. 132, 23, 1940

19. Fries B. A., H. Schachner and I. L. Chaikoff,
The in vitro formation of phospholipid by brain and nerve with radioactive phosphorus as indicator.
J. Biol. Chem. 144, 59, 1942

20. Heffe W.,
Persönliche Mitteilung. 1957

21. Kickhöfen B. und O. Westphal,
Trennung der Aminosäuren - und Peptidgemische durch Hochspannungs-Papierionophorese. Z. Naturforsch. 7b, 655, 1953

22. Knauff H. G., W. Mialkowsky und H. Zickgraf,
Über die freien Aminosäuren des Liquor cerebrospinalis und ihren Nachweis mit kombinierten papierchromatographischen und elektropherographischen Methoden.
Zeitschr. f. klin. Medizin 155, 483-505, 1959

23. Knauff H.G., H. Selmair und A. Reitlinger,
Untersuchungen über die freien Aminosäuren in Harn und Blutplasma von Gesunden und von Leberkranken.
Klin. Wschr. 38, 16, 812, 1960

24. Knauff H. G. und F. Böck,
Über die freien Gehirnaminosäuren und das Äthanolamin der normalen Ratte und das Verhalten dieser Stoffe während der Insulinhypoglykämie.
J. Neuroch. 6, 1960/61, im Druck

25. Levine C. and E. Chargaff,
Phosphatide composition in different liver cell fractions.
Exp. Cell. Res. 3, 154, 1952

26. Levy A. L. and D. Chung,
Two-dimensional chromatography of amino acids on buffer paper.
Analyt. Chem. 25, 396, 1953

27. Logothetis L.,
A study of free amino acids in the human cerebrospinal fluid.
Neurology (Minneap.) 5, 767, 1955

28. Mc Cance R. A., A. B. Morrison and C. E. Dent,
The excretion of phosphoethanolamine and hypophosphatasia.
Lancet 131, 1955

29. Michl H.,
Über Papierionophorese bei Spannungsgefällen von 50 Volt/cm.
2. Mitt. Mh. Chem. 83, 737, 1952

30. Moore S. and W.J. Stein,
Procedures for the chromatographic determination of amino acids on four per cent crosslinked sulfonated polystyrene resins.
J. Biol. Chem. 211, 893, 1954

31. Moore S. and W.J. Stein,
A modified ninhydrin reagent for the photometric determination of amino acids and related compounds.
J. Biol. Chem. 211, 907, 1954 b

32. Moore S. and W.J. Stein,
Unveröffentlicht 1957

33. Müller E.,
Kommt Äthanolamin frei im Gehirn vor?
Zschr. f. Biologie 100, 49, 1940

34. Outhouse E.L.,
Amino-ethyl phosphoric ester from tumours.
Biochem. J. 30, 197, 1936

35. Outhouse E.L.,
Further studies of amino-ethyl phosphoric ester - a compound apparently specific to malignant tumours.
Biochem. J. 31, 1459, 1937

36. Popják G. and H. Muir,
In search of a phospholipid precursor.
Biochem. J. 46, 103, 1949

37. Rossiter R.J., I.M. Mc Leod and K.P. Strickland,
Biosynthesis of lecithin in brain and degenerating nerve.
Participation of cytidine diphosphate choline.
Can. J. Biochem. Physiol. 35, 945, 1957

38. Schönenberg H.,
Papierchromatographische Liquoruntersuchungen. Die Papierchromatographie des Liquors bei zentralnervösen, entzündlichen Erkrankungen.
Z. Kinderheilk. 75, 301, 1954

39. Schönenberg H.,
Möglichkeiten und Grenzen der Liquordiagnostik bei den entzündlichen zentralnervösen Erkrankungen im Kindesalter.
Ärztl. Forsch. 9, 33, 1955

40. Schönenberg H.,
Die Papierchromatographie des Liquor cerebrospinalis.
Nervenarzt 27, 54, 1956

41. Schuwirth K.,
Serin als stickstoffhaltiger Bestandteil der Glyzerinphosphatide aus Menschengehirn.
Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. 270, I, 1941

42. Solomon J.D., S.W. Hier and O. Bergeim,
Free amino acids in cerebrospinal fluid.
J. Biol. Chem. 171, 695, 1947

43. Stein J.W. and S. Moore,
Electrolytic desalting of amino acids. Conversion of arginine to ornithine.
J. Biol. Chem. 190, 103, 1951

44. Swanson M. and C. Artom,
The lipide composition of the large granules (mitochondria) from rat liver.
J. Biol. Chem. 187, 281, 1950

45. Tallan H.H., S. Moore and W.H. Stein,
Studies on the free amino acids and related compounds in the tissues of the cat. J. Biol. Chem. 211, 927, 1954

46. Tyrell L.W. and D. Richter,
The lipids of cell nuclei isolated from brain cortex.
Biochem. J. 49, Proc. LI. 1951

47. Walker D.M.,
The free amino acids occuring in body tissues and blood of the rat ant of the cow. Biochem. J. 52, 679, 1952

48. Walshe J.M.,
Disturbances of amino acid metabolism following liver injury.
Quart. J. Med. 22, 483, 1953

49. Werner G. und O. Westphal,
Stoffrennungen durch Hochspannungs- Papierelektrophorese.
Angew. Chem. 67, 251, 1955

50. Williams H.H., M. Kaucher, A.J. Richards, E.Z. Moyer and G.R. Sharpless,
The lipid partition of isolated cell nuclei of dog and rat livers.
J. Biol. Chem. 160, 227, 1945

51. Williams H.H., H. Galbraith, M. Kaucher, E.Z. Moyer, A.J. Richards and I.G. Macy,
The effect of growth on the lipid composition of rat tissues.
J. Biol. Chem. 161, 475, 1945

Nachwort

Zum Abschluß der vorliegenden Arbeit möchte ich dem wissenschaftlichen Oberassistenten der II. Medizinischen Klinik der Universität München, Herrn Professor Dr. Hermann Zickgraf für die Überlassung des Themas herzlichst danken.

Dem wissenschaftlichen Assistenten der II. Med. Klinik, Herrn Dr. med. Hans-Georg Knauff bin ich für die stets erwiesene Hilfsbereitschaft zu großem Dank verpflichtet.

Auch Herrn Professor Dr. Otto Wieland möchte ich an dieser Stelle für die Großzügigkeit danken, mit der er jederzeit die Mitbenützung seiner Laboreinrichtung gestattete.

Dem Direktor der II. Medizinischen Klinik der Universität München, Herrn Professor Dr. Dr. G. Bodechtel danke ich sehr für die Übernahme des Korreferates.

Herrn Professor Dr. K. Decker, Universitäts-Nervenklinik (Direktor: Professor Dr. K. Kolle) sowie Herrn Professor Dr. H. D. Pache, Universitäts-Kinderklinik (Direktor: Professor Dr. A. Wiskott), danke ich herzlich für die Überlassung der Liquores.

L e b e n s l a u f

Am 7. 7. 1934 bin ich als Tochter des Fabrikdirektors Dr. jur. Fritz Roth und seiner Frau Gertrud, geb. Wecker, in Zweibrücken/Pfalz geboren.

Nach Besuch der Volksschule von 1941 bis 1946 trat ich im Mai 1946 in das Herzog-Wolfgang-Gymnasium Zweibrücken ein. Ab 1950 besuchte ich das Stadtgymnasium Dortmund, wo ich im März 1954 die Reifeprüfung ablegte.

Im Sommersemester 1954 begann ich mein Medizinstudium an der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster. Von 1955 bis 1957 studierte ich an der Christian-Albrecht-Universität Kiel und ab Sommersemester 1957 an der Ludwig-Maximilians-Universität München, wo ich im Januar 1961 das medizinische Staatsexamen ablegte.

Seit 1. März 1961 bin ich als Medizinalassistentin auf der Inneren Abteilung der Diakonie-Anstalten, Bad Kreuznach, beschäftigt.